

Э. С. ГУЛЯНЦ, Л. В. ЗАКРУТКИНА

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МОЧИ НА ЭПИТЕЛИЙ.
ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ ПЛАСТА КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК RH

(сообщение I)

В опытах *in vitro* изучена гистофизиологическая и электронно-микроскопическая характеристика культуры клеток под влиянием мочи здорового и больного человека. Показано, что с увеличением сроков инкубации нарастают признаки дистрофии клеток, нарушается микроархитектоника пласта. Неинфицированная моча оказывает цитостатическое влияние на клетки культуры ткани, а инфицированная—цитолитическое.

Клинический опыт показывает, что длительный контакт мочи с тканями вызывает в них развитие альтерации с последующим рубцеванием [1]. По данным А. А. Русанова [2], мочевой инфильтрации принадлежит важное значение в механизме развития стриктур уретры. Культура ткани, лишенная нервных, гуморальных и эндокринных влияний, служит идеальным объектом для выяснения действия разнообразных факторов, в том числе и компонентов мочи, на клетку.

Цель работы состоит в изучении влияния неинфицированной нативной и инфицированной мочи на гистофизиологическую характеристику культуры клеток.

Материал и методы исследования

В опытах *in vitro* использовали культуру клеток RH (почка 23-суточного эмбриона человека), полученную из Института вирусных препаратов МЗ СССР в виде монослоя. Пересев клеток осуществляли на 7-е сутки роста, в качестве питательной использовали среду № 199 с добавлением 10% бычьей сыворотки без консерванта, в среду добавляли мономицин в дозе 0,1 г/500 мл. Для цитохимических исследований культуру клеток выращивали на полосках покровных стекол в пенициллиновых флаконах и на 3-е сутки культивирования при завершении формирования полноценного монослоя осуществляли контакт с неинфицированной нативной мочой здорового человека и инфицированной мочой больного. Последнюю получали из надлобкового свища у больных аденомой предстательной железы, осложненной развитием пиелонефрита. Спустя 5, 10, 15 и 20 мин после контакта мочи с культурой клеток последнюю окрашивали после предварительной фиксации в спирт—формалине (9:1) для выявления РНК, ДНК и общего белка по Эйнарссону, Фельгену и бромфеноловым синим, а также гематоксилин-эозином. Часть наблюдений исследовали электронно-микроскопически. Результаты реакций оценивали качественно и количественно с использованием сканирующего цитофотометра и вычислением относительной оптической плотности продуктов гистохимических реакций (в усл. ед.).

Результаты и обсуждение

В клеточном пласте различали две популяции: крупные светлые овальной формы клетки с диффузным содержанием хроматина и мел-

кие вытянутые клетки, содержащие достаточно длинные отростки, контактирующие с цитоплазмой клеток на противоположной поверхности альвеолоподобных структур (рис. 1, а). Обе популяции формируют альвеолоподобные структуры, просветы которых заполнены крупными светлыми клетками, а стенки представлены мелкими вытянутыми клетками (рис. 1, б).

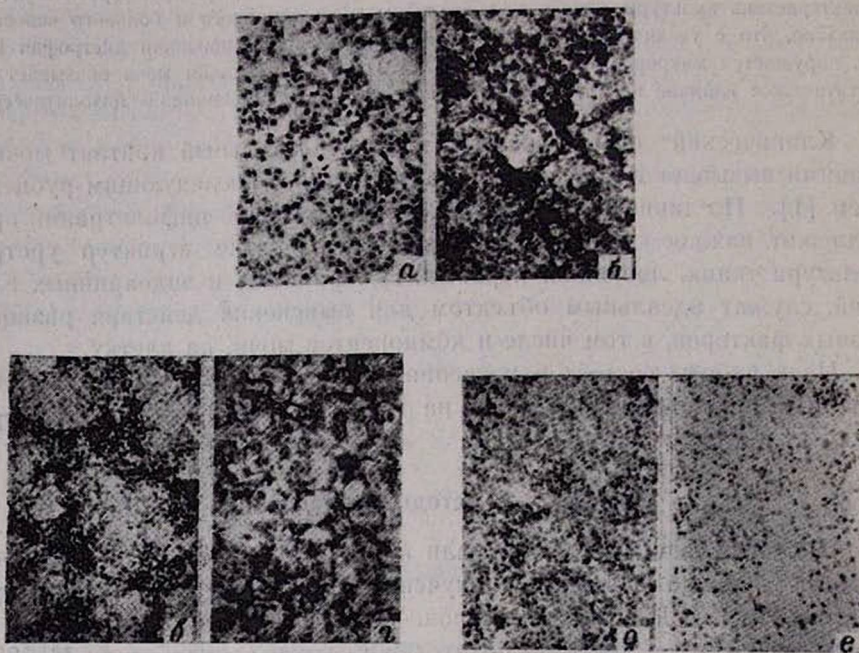


Рис. 1. Гистофизиологическая характеристика культуры клеток при действии неинфицированной и инфицированной мочи. а) два типа клеток в монослое. Окраска по Эйнарссону. Контроль; б) альвеолоподобная структура монослоя. Окраска по Фельгену. Контроль; в) ослабление межклеточных связей светлых клеток. Окраска по Фельгену. 15-минутная экспозиция с неинфицированной мочой; г) снижение содержания белка в двух популяциях клеток. 15-минутная экспозиция с неинфицированной мочой; д) диффузное закрашивание ядер темных клеток, некробиоз светлых клеток. Окраска по Фельгену. 15-минутная экспозиция с инфицированной мочой; е) полная дезинтеграция пласта с гипохромией клеток. Окраска по Эйнарссону. 20-минутная экспозиция с инфицированной мочой. Ок. 10, об. 16.

Спустя 5 мин после контакта с неинфицированной мочой резко снижается содержание общего белка, преимущественно в светлых клетках; формируются симпластоподобные структуры; хроматин распределяется в ядрах диффузно. Спустя 10 мин происходит уплотнение цитоплазмы светлых клеток, снижается число ядрышек, ядра закрашиваются более интенсивно, сморщены. Спустя 15 мин происходит обогащение клеток межальвеолярных перегородок, ослабление в светлых клетках межклеточных связей (рис. 1, в), исчезновение отростков, снижение содержания РНК, ДНК и общего белка (рис. 1, г). К 20-й минуте нарастают признаки старения клеточного пласта, разобщения клеток и возраста-

ют размеры альвеол, участками регистрируется утрата альвеолярно-клеточного строения, гипохромия всех клеточных форм.

При действии инфицированной мочи возникали измельчение альвеолоподобных структур, заполнение их просветов свободнолежащими клетками с просветленной кардио- и цитоплазмой. Снижался уровень содержания РНК, ДНК и общего белка, уменьшалось число ядрышек. Спустя 10 мин границы между клетками различались нечетко, большинство ядер имело вид теней, цитоплазма вакуолизировалась в основном в периферических отделах перикарионов. При окраске на общий белок все типы клеток выявлялись крайне бледно, присутствие ДНК в виде мелких гранул определяли в отдельных ядрышках. Спустя 15 мин клеточный пласт практически полностью утрачивал свою архитектуру: клетки лежали отдельно, местами отсутствовала альвеолоподобная структура (рис. 1, д). Цитоплазма большинства клеток сморщивалась, уплотнялась, ядра были пикнотичны. Спустя 20 мин наблюдали полную утрату избирательности окраски и деструкцию клеточного пласта (рис. 1, е).

При электронной микроскопии развитие необратимых изменений в клетках заключалось в разрушении плазматической мембраны, набухании митохондрий с превращением их в крупные вакуоли, увеличении числа лизосом с формированием клеточного детрита (рис. 2, а—в).

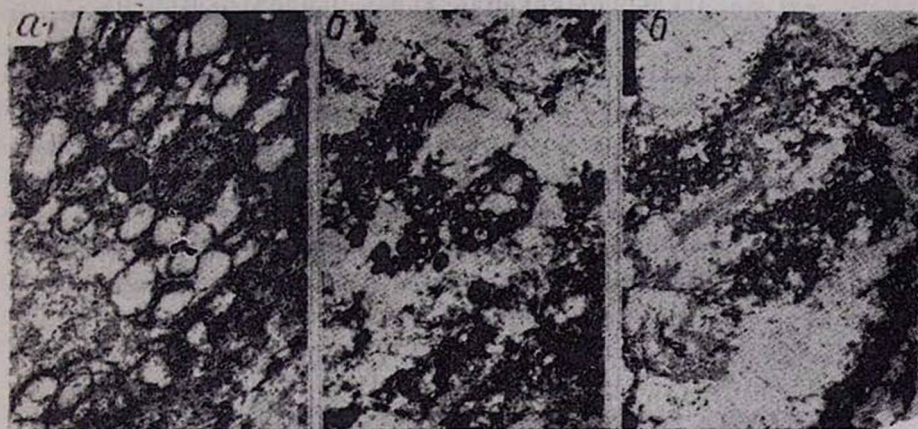


Рис. 2. Электронно-микроскопическая характеристика культуры клеток при 15-минутном контакте с инфицированной мочой. а) контакт лизосом с митохондриями и гибелью последних. Ув. $\times 6300$; б) формирование клеточного детрита в цитоплазме светлой клетки. Ув. $\times 5700$; в) полная дезинтеграция цитоплазмы светлой клетки. Ув. $\times 5600$.

Проведенное исследование дает основание заключить, что контакт мочи с культурой клеток сопровождается уже в ранние сроки экспозиции развитием дистрофических изменений в клетках, которые нарастают с удлинением сроков контакта. Особенно резко указанные изменения выражены при действии инфицированной мочи. В этом случае в ранние сроки происходит дезинтеграция клеточного пласта, развитие дистрофических и пренекротических изменений в клетках, а к 15-й ми-

нута возникают признаки полной депрессии гистофизиологической характеристики пласта, указывающие на его нежизнеспособность.

Анализируя различные действия мочи здорового и больного человека, мы считаем, что неинфицированная моча оказывает цитостатическое влияние на клетки культуры, а инфицированная—цитолитическое действие.

При оценке действия мочи на клетки следует учесть, что в настоящей работе использовали культуру клеток эмбрионального эпителия почки, который в эволюции специализирован к длительному контакту с мочой. Высокая ранимость этого специализированного эпителия объясняет выраженное альтерирующее воздействие мочи на другие виды эпителия. Некроз специализированного эпителия мочевых путей служит первым этапом развития мочевых затеклов.

Кафедра факультетской хирургии
Ростовского медицинского института

Поступила 25/III 1982 г.

Է. Ս. ԳՈՒԼՅԱՆՑ, Լ. Վ. ԶԱԿՐՈՒՏԿԻՆԱ

ԷՊԻԹԵԼԻ ՎՐԱ ՄԵԶԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ.

ՀԱՂՈՐԴՈՒՄ 1.

RH ԲԶԻԶՆԵՐԻ ԿՈՒԼՏՈՒՐԱՅԻ ՇԵՐՏԻ ՀԻՍՏՈՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՆ

Փորձերում ուսումնասիրվել է առողջ և հիվանդ մարդկանց մեզի ազդեցության տակ բջիջների կուլտուրայի հիստոֆիզիոլոգիական և էլեկտրոնային մանրադիտակային բնութագիրը: Ցույց է տրված, որ ինկուբացիայի ժամկետների երկարացման հետ միաժամանակ զարգանում են բջիջների սնուցախանգարման երևույթները, խանգարվում է շերտի միկրոարխիտեկտոնիկան: Զինֆեկցված մեզը ունենում է ցիտոստատիկ, իսկ ինֆեկցվածը՝ ցիտոլիտիկ ազդեցություն հյուսվածքի կուլտուրայի բջիջների վրա:

E. S. GOULYANTS, L. V. ZAKROUTKINA

STUDY OF THE EFFECT OF URINE ON EPITHELIUM.

REPORT I. HISTOPHYSIOLOGY OF THE RH-CELL'S CULTURE LAYER

In experiments in vitro there have been studied the histophysiological and electron microscopic characteristics of the RH-cells' culture under the influence of urine in healthy and sick persons. It is shown that with the increase of incubative terms the signs of the cells' dystrophy increase as well, the microarchitectonics of the layer undergoes definite disturbances. Uninfected urine has cytostatic and infected urine—cytolytic effects on the cells' culture.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Русаков В. И. Урол. и нефрол., 1972, 1, стр. 76.
2. Русанов А. А. Разрывы уретры. М., 1953.